

تأثیر تیمارهای شکست خواب بر جوانه‌زنی بذر آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.)

احمد نوروزیان^۱، مجید معصومیان^{۲*}، محمدعلی ابراهیمی^۳، غلامرضا بخشی خانیکی^۴

^۱ کارشناس ارشد پژوهشی، گروه گیاهان دارویی پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

^۲ استادیار گروه گیاهان دارویی پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

^۳ دانشیار و استاد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: masoumian@irost.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۱/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۰۶)

چکیده

آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.)، از گونه‌های مهم تیره چتریان است که بذره‌های آن دوره خواب نسبتاً طولانی دارد. در این تحقیق تیمارهای سرمادهی مرطوب، آبشویی، اسید جیبرلیک، غلظت نمک‌های معدنی محیط کشت و زمان برداشت بذر و همچنین تأثیر متقابل این عوامل به‌منظور دستیابی به شرایط بهینه جوانه‌زنی، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد سرمادهی مرطوب به مدت ۲ هفته در دمای ۴-۵ درجه سانتی‌گراد به میزان ۵۰ درصد میانگین جوانه‌زنی را در مقایسه با شاهد افزایش داد. در تیمار آبشویی، بیشینه جوانه‌زنی در مدت زمان ۶ ساعت (۴۲ درصد) و کمینه آن در زمان ۲ ساعت (۲۰/۴۷ درصد) حاصل شد. اسید جیبرلیک با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، توانست میانگین جوانه‌زنی را ۴۱/۵ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دهد. تغییر در غلظت نمک‌های معدنی محیط کشت نیز نشان داد که محیط $MS \frac{1}{2}$ ، می‌تواند در مقایسه با محیط MS کامل، میانگین جوانه‌زنی را به میزان ۲۵ درصد افزایش دهد. همچنین میانگین جوانه‌زنی در نتیجه اعمال تیمارهای مذکور بر روی بذره‌های یک‌ساله، اثر معنی‌داری در مقایسه با بذره‌های تازه برداشت شده داشت (به ترتیب ۶۱ در مقایسه با ۳۶ درصد). با انجام آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، بهترین ترکیب تیماری که توانست میانگین جوانه‌زنی را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد (۷۳/۸۳ درصد)، ترکیب دو هفته سرما، محیط $MS \frac{1}{2}$ ، ده میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و شش ساعت آبشویی بود. لذا با توجه به نتایج حاصله، به‌منظور شکست خواب بذر آنغوزه، پیشنهاد می‌شود علاوه بر استفاده از بذره‌های یک‌ساله، از محیط کشت $MS \frac{1}{2}$ ، به همراه تیمارهای تلفیقی سرمادهی مرطوب، آبشویی و اسید جیبرلیک استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آبشویی، آنغوزه، اسید جیبرلیک، جوانه‌زنی، زمان برداشت بذر، سرمادهی، شکست خواب

مقدمه

است. دو فندقه در زمان رسیدن از یکدیگر جدا می‌شوند و هر کدام به یک بذر تبدیل و ریزش می‌کنند (امیدبیگی و همکاران، ۱۳۸۴). منابع ژنتیکی اصلی گیاه آنغوزه همواره از عرصه‌های طبیعی تأمین شده است. روش‌های ناپایدار بهره‌برداری، منجر به تخریب بخش وسیعی از رویشگاه‌های طبیعی این گیاه شده است. برداشت آنغوزه از ریشه گیاه با روش‌های سنتی و تیغ‌زنی نامناسب که گاهی به دلیل سودجویی‌های

آنغوزه گیاهی است علفی، کرک‌دار، چندساله و خودگشن (زرگری، ۱۳۷۵، گل‌محمدی^۱، ۲۰۱۳). بذره‌های آنغوزه به شکل راکت و بسیار سبک هستند. میوه آن دو فندقه به رنگ قهوه‌ای تیره یا قهوه‌ای خرمایی، بیضی نسبتاً مسطح و دارای ۵ خط مشخص در هر مریکارپ با کناره تغییر شکل یافته به‌صورت بال

^۱ Golmohammadi

در تحقیق حاضر اثر تیمارهای سرمادهی مرطوب، آبشویی، اسید جیبرلیک، غلظت نمک‌های معدنی محیط کشت، زمان برداشت بذر و همچنین تأثیر متقابل این تیمارها بر شکست خواب بذرهای آنگوزه در شرایط آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت تیمار بهینه به‌منظور شکست خواب بذر این گیاه پیشنهاد شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی مواد گیاهی

بذرهای آنگوزه گونه *Ferula assa-foetida* L. در سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ که از طریق اداره منابع طبیعی طبرستان از جمعیت‌های طبیعی دامنه‌های ارتفاعات طبرستان با مختصات جغرافیایی طول شرقی ۵۵ درجه و ۲۰ دقیقه تا ۵۸ درجه و ۱۵ دقیقه و عرض شمالی ۳۰ درجه و ۴۰ دقیقه تا ۳۵ درجه و ۸ دقیقه با ارتفاع حدود ۱۲۰۰ متر از سطح دریا، جمع‌آوری شده بود. به‌منظور تعیین درصد بذر با جنین زنده، از آزمون تترازولیوم (ایستا، ۱۹۹۹) استفاده شد که بر اساس نتایج آزمون، ۹۰/۶۹ درصد از بذرهای زنده بودند. در ابتدا با هدف از بین بردن آلودگی‌های سطحی، بذر را با آب جاری به‌خوبی شسته، سپس با الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۰ دقیقه، ضدعفونی شد و دوباره با آب مقطر در سه مرحله زمانی ۲، ۳ و ۵ دقیقه‌ای زیر هود لامینار شستشو داده شد. پس از آن در ظروف شیشه‌ای حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محیط کشت پایه MS کامل و MS 1/2 (مورشیگ و سوگ^۴، ۱۹۶۲) حاوی هورمون اسید جیبرلیک در غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر کشت داده شد. نیمی از بذر را به‌منظور بررسی تیمار سرمایی به مدت (۲ و ۳ هفته)، در شرایط دمایی ۵-۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و مابقی نمونه‌ها به‌عنوان شاهد به اتاقک رشد با شرایط نوری ۳۰۰۰ لوکس، دمای ۲۵ ± ۲ درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافت.

اقتصادی بر روی بوته‌های کمتر از ۴ سال نیز صورت می‌گیرد، منجر به از بین رفتن گیاه و کاهش شدید باردهی در سال‌های بعد شده و بهره‌برداری محصول را به لحاظ اقتصادی نامطلوب می‌نماید. هم‌چنین مونوکارپیک بودن گیاه (گل دادن گیاه برای یک‌بار در طول عمر خود) باعث می‌شود تا شیره پرورده در سال‌های آخر صرف تشکیل بذر شده و گیاه پس از گل‌دهی و تولید بذر، برای همیشه خشک شده و از بین می‌رود. تنها راه تجدید حیات طبیعی آنگوزه، از طریق تولید و پراکنش بذر است. در عین حال کاشت این گیاه به شیوه‌های سنتی نظیر کپه‌کاری بذر نیز نتایج مطلوبی در برنداشته است (غلامی و عسگرزاده، ۱۳۸۷). لذا استفاده از روش‌های فیزیکی و شیمیایی مطلوب، به‌منظور تسریع در جوانه‌زنی و تکثیر این گیاه دارویی با ارزش در راستای حفظ بقا و جلوگیری از خطر انقراض این گونه مهم اقتصادی، مورد توجه محققان مختلف می‌باشد.

نتایج اکثر تحقیقات نشان داده که برخی بذرهای گیاهان دارویی، علف‌های هرز و گونه‌های وحشی، به دلایل متعددی همچون سازگاری اکولوژیکی، دارای مکانیسم‌های مختلف خواب مانند پوسته سخت، فیزیولوژیکی، القایی و غیره می‌باشند. خواب بذر آنگوزه، همچون اغلب گونه‌های تیره چتریان از نوع خفتگی درونی فیزیولوژیکی است و با اعمال دوره‌های متناوب سرما و یا تیمارهای هورمونی مختلف (اطرشی^۱ و همکاران، ۲۰۰۹) شکسته می‌شود. انجمن متخصصین رسمی تجزیه بذر^۲ و انجمن بین‌المللی آزمون بذر^۳ روش‌های مختلفی را جهت شکست خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر پیشنهاد داده‌اند. از مهم‌ترین این روش‌ها می‌توان به شستشوی بذر، سرمادهی، چینه‌سرمایی، خراش‌دهی مکانیکی و شیمیایی پوسته بذر، کشت جنین، استفاده از محلول‌های مختلف تحریک‌کننده جوانه زنی (جیبرلین، نیترات پتاسیم، اسید نیتریک، تیوره، پلی‌اتیلن گلیکول، اتانول و غیره)، تناوب‌های نوری، دمایی و ترکیب چندعاملی اشاره نمود.

¹ Otrshy

² Association of Official Seed Analysts (AOSA)

³ International Seed Testing Association (ISTA)

⁴ Murashige and Skoog

اعمال تیمارهای شکست خواب

به‌منظور اعمال تیمارهای شکست خواب بذر آنگوزه، از محیط MS حاوی هورمون GA3 (رجیبیان و همکاران، ۱۳۸۶) با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر، استفاده شد. در تیمار سرمایی، بذرها به مدت ۲ و ۳ هفته در دمای ۴-۵ درجه سانتی‌گراد، نگهداری شد. در تیمار آبشویی بذرها به مدت ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ ساعت با آب جاری شستشو (آبشویی) شده و در تیمار محیط کشت از محیط کامل (MS) و محیط MS 1/2 و در اعمال تیمار سال، از بذرهای تازه برداشت شده و یک‌ساله استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در هر یک از آزمایش‌های مربوط به شکست خواب، خروج ریشه‌چه از پوسته بذر به‌اندازه ۲ میلی‌متر به‌عنوان شاخص و مبنای جوانه‌زنی بذر، منظور شد. این مشاهدات به مدت چهار هفته از تاریخ کشت، انجام و داده‌های مربوط به هر تیمار شامل تعداد کل بذر کشت شده، تعداد بذر جوانه‌زده، شمارش و نتایج در جداول مربوطه ثبت گردید. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. هر تیمار مشتمل بر ۳۰ لوله آزمایش بود که هر لوله حاوی یک بذر، نیز به‌عنوان تکرار محسوب شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن به کمک نرم‌افزار SPSS 16 و نمودارها نیز با استفاده از EXCEL رسم گردید. بعد از به دست آمدن نتایج آزمایش‌های اولیه، فاکتورهای زمان سرمادهی (۰، ۲ و ۳ هفته)، غلظت هورمون اسید جیبرلیک (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر)، زمان آبشویی (۴، ۶ و ۸ ساعت) به همراه قدرت محیط کشت (MS و MS 1/2) به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با نرم‌افزار SAS 9 تجزیه و تحلیل شد. به‌منظور بررسی درصد جوانه‌زنی یا قوه نامیه بذرهای آنگوزه نیز از رابطه ۱ استفاده شد.

رابطه ۱:

درصد جوانه‌زنی = تعداد بذر جوانه‌زده تقسیم بر تعداد بذر کاشته شده ضربدر ۱۰۰.

نتایج

اثر تیمار سرمادهی بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، نیز حاکی از معنی‌دار بودن تیمار سرمایی در سطح یک درصد بود. نتایج حاصل از اعمال تیمار سرمادهی بذرهای آنگوزه در این تحقیق، حاکی از آن است که سرمای مرطوب تأثیر مثبت و فزاینده‌ای در افزایش میانگین جوانه‌زنی بذر این گیاه داشت. به‌گونه‌ای که با سرمادهی به مدت دو هفته، ۴۱ درصد بذرهای کشت شده در محیط، جوانه زدند که در مقایسه با تیمار شاهد (بدون سرما) با میانگین ۲۳ درصد در حدود ۵۰ درصد افزایش جوانه‌زنی نشان داد. در تیمار سرمایی سه‌هفته‌ای نیز میانگین جوانه‌زنی از روند افزایشی در مقایسه با تیمار شاهد برخوردار بود، اما در مقایسه با تیمار دو هفته‌ای کاهش نشان داد (شکل ۱). اگرچه با تداوم سرما و طولانی‌تر شدن مدت زمان تیمار سرمایی، میانگین بذرهای جوانه‌زده تا نزدیک به ۹۰ درصد افزایش یافت، اما این میزان زمان به لحاظ اقتصادی مقرون‌به‌صرفه نخواهد بود. بنابراین تیمار دو هفته سرمایی مرطوب در شرایط کشت درون شیشه‌ای، می‌تواند منجر به شکست خواب بذر آنگوزه گردد. تصویر جوانه‌زنی بذرهای آنگوزه در سه سطح تیمار سرمایی (شامل بدون سرما، دو هفته و سه هفته سرما) در (شکل ۲) نشان داده شده است.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمار سرمادهی برای جوانه‌زنی بذر آنگوزه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمون F
تیمار	۲	۲۱۴/۶۸۲	۷۸/۰۹۹**
خطای آزمایش	۶	۲/۷۴۹	

ضریب تغییرات = ۱۰/۲۰٪

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

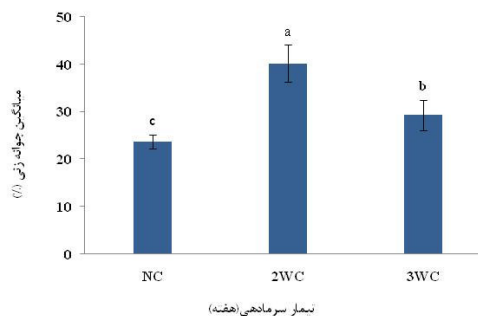
نوروزیان و همکاران: تأثیر متقابل تیمارهای شکست خواب بذر بر جوانه‌زنی آنگوزه...

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر غلظت هورمون (GA3) بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه

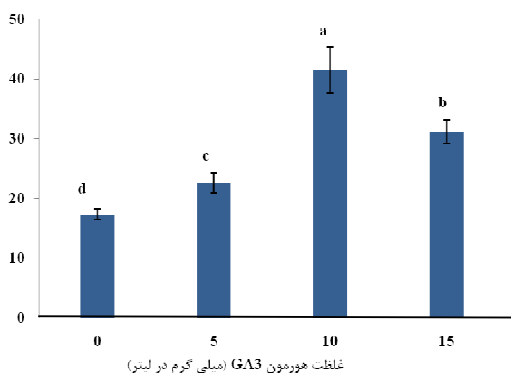
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمون F
تیمار	۳	۳۰۴/۸۲۲	۵۹/۶۷۲**
خطای آزمایش	۸	۵/۱۰۸	

ضریب تغییرات = ۹/۲۳٪

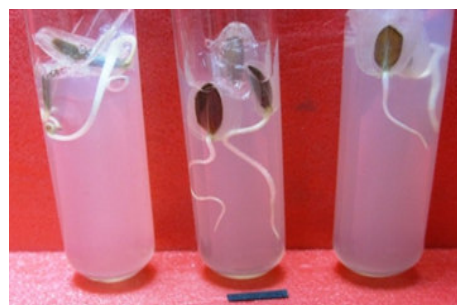
** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۱- مقایسه تیمارهای سرمادهی برای میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه (حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن است).
 NC بدون سرمادهی، 2WC دوهفته سرمادهی، 3WC سه هفته سرمادهی



شکل ۳- مقایسه اثر غلظت هورمون GA3 بر درصد جوانه‌زنی بذر آنگوزه (حروف مشترک عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن نشان می‌دهد).



شکل ۲- تصویر جوانه‌زنی بذر آنگوزه بر حسب تیمار سرمادهی (از راست، تیمارهای ۳ هفته، ۲ هفته و بدون سرما) (شاخص برابر یک سانتی‌متر)



شکل ۴- تصویر جوانه‌زنی بذر آنگوزه بر حسب تیمار GA3 (از راست، غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر) (شاخص برابر یک سانتی‌متر)

اثر تیمار آبشویی بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه

تجزیه واریانس تیمار آبشویی نشان داد که شستشوی بذرها با آب جاری اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی

اثر اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه

نتایج جدول تجزیه واریانس نیز حاکی است که در تیمار اسید جیبرلیک با غلظت‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ملاحظه می‌شود (جدول ۲). بررسی اثر غلظت‌های مختلف هورمون اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه نشان داد که تیمار اسید جیبرلیک با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، بیشترین میزان جوانه‌زنی با مقدار ۴۱/۵ درصد را ایجاد کرد که در مقایسه با تیمار شاهد (بدون هورمون) با مقدار ۱۷/۳ درصد، جوانه‌زنی را به میزان ۲۴ درصد افزایش داد (شکل ۳). اگرچه غلظت ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نیز از میانگین جوانه‌زنی نسبتاً بهتری در مقایسه با محیط حاوی غلظت ۵ و کمتر برخوردار بود (شکل ۴).

اثر تیمار محیط کشت بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه

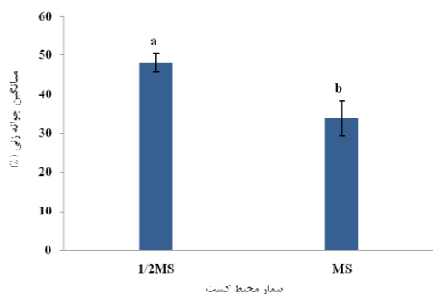
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نیز نشان داد محیط کشت بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه اثر معنی‌داری داشت (جدول ۴). در خصوص اثر غلظت نمک‌های محیط کشت بر جوانه‌زنی بذر، نتایج نشان داد که محیط کشت MS ۱/۲ میانگین جوانه‌زنی بذر را تا ۴۸ درصد افزایش داد که در مقایسه با محیط کامل MS با میانگین ۳۶ درصد، معادل ۲۵ درصد تأثیر مثبت بر جوانه‌زنی بذر داشته است (شکل ۷). ریشه‌ها در محیط MS ۱/۲ در مقایسه با محیط کامل از روند رشدی بهتر و بیشتری برخوردار بودند (شکل ۸).

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر محیط کشت بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمون F
تیمار	۱	۲۳۲/۲۹۶	۱۷/۸۸۶*
خطای آزمایش	۴	۱۲/۹۸۸	

ضریب تغییرات = ۹/۰۳٪

* معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد



شکل ۷- مقایسه اثر محیط کشت بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه (حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون دانکن نشان می‌دهد).

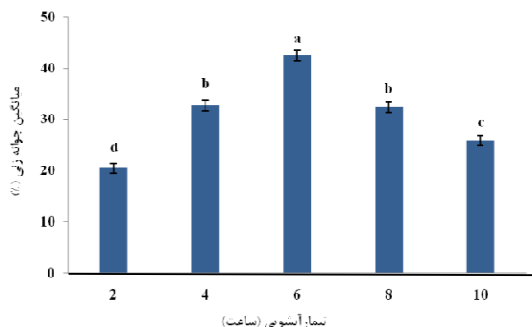
بذر این گیاه داشت (جدول ۳). بیشترین میانگین جوانه‌زنی در تیمار ۶ ساعته شستشوی مداوم با آب جاری ملاحظه گردید. این میزان آبشویی تا ۴۲ درصد جوانه‌زنی را افزایش داد. آبشویی ۸ ساعت و بیشتر، افزایش قابل توجهی در جوانه‌زنی ایجاد نکرد. کمترین میزان جوانه‌زنی نیز در تیمار دو ساعت آبشویی با ۲۰/۴۷ درصد مشاهده شد (شکل ۵). اختلاف طول ریشه در بذرهای جوانه‌زده در تیمارهای مختلف آبشویی در (شکل ۶) قابل مشاهده است.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمار آبشویی بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمون F
تیمار	۴	۱۹۹/۴۱۱	۲۲۴/۲۷۵**
خطای آزمایش	۱۰	۰/۸۸۹	

ضریب تغییرات = ۵/۰۵٪

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۵- مقایسه تیمارهای آبشویی بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه (حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون دانکن نشان می‌دهد).



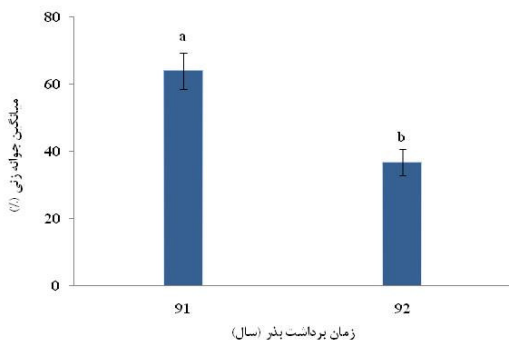
شکل ۶- تصویر جوانه‌زنی بذر آنگوزه در تیمار آبشویی (از چپ، دو، چهار، شش، هشت و ده ساعت آبشویی) (شاخص برابر یک سانتی‌متر)

این آزمایش نیز، افزایش یا کاهش سرمادهی و دیگر فاکتورها، منجر به افزایش میزان جوانه‌زنی نگردید و بهترین ترکیب تیماری، نتوانست خواب ۱۶/۹۲ درصد از بذره‌ای زنده را بشکند.

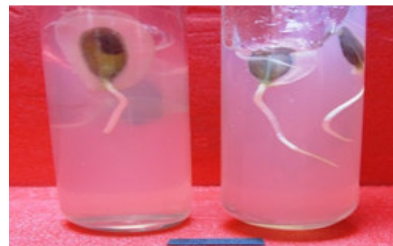
جدول ۵- تجزیه واریانس اثر سال جمع‌آوری بذر بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمون F
تیمار	۱	۶۰۴/۶۰۹	۲۸/۸۷۴**
خطای آزمایش	۴	۲۰/۹۴۰	
ضریب تغییرات = ۹/۵۱٪			

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۹- مقایسه اثر سال جمع‌آوری بذر بر درصد جوانه‌زنی بذر آنگوزه (حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون دانکن نشان می‌دهد).



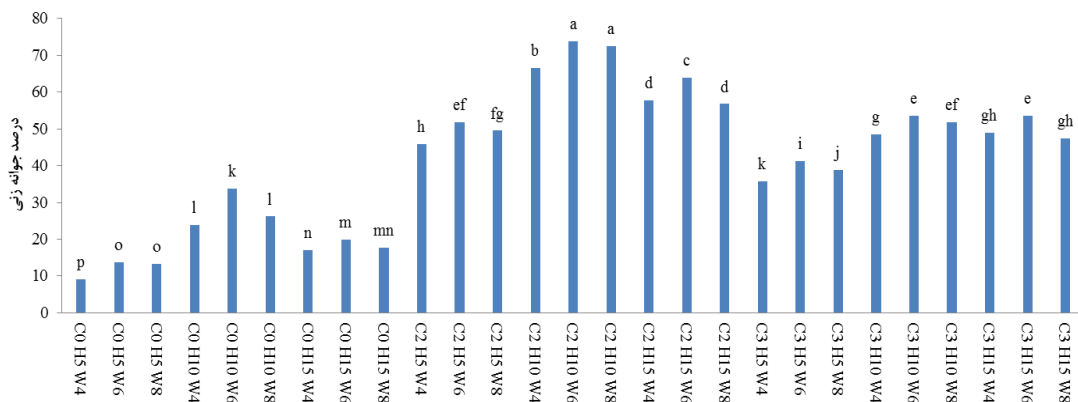
شکل ۸- تصویر جوانه‌زنی بذر آنگوزه در تیمار محیط کشت (راست: محیط کشت 1/2 MS؛ چپ: MS) (شاخص برابر یک سانتی‌متر)

اثر سال و زمان برداشت بذر بر جوانه‌زنی آنگوزه

تجزیه واریانس نشان داد که سال جمع‌آوری بذر اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه داشت (جدول ۵). پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی و مشخص شدن تأثیر فاکتورهای مختلف بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه، اثر ترکیبی فاکتورها بر روی بذره‌ای دو سال متوالی بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان جوانه‌زنی با میانگین ۶۱ درصد مربوط به بذره‌ای یک‌ساله (سال ۱۳۹۱) بود. بذره‌ای تازه برداشت شده (سال ۱۳۹۲) نیز ۳۶ درصد جوانه‌زنی نشان داد. این افزایش جوانه‌زنی به‌طور متوسط نسبت به آزمایش‌های جداگانه هر یک از تیمارها، ۲۰ درصد بیشتر بود (شکل ۹).

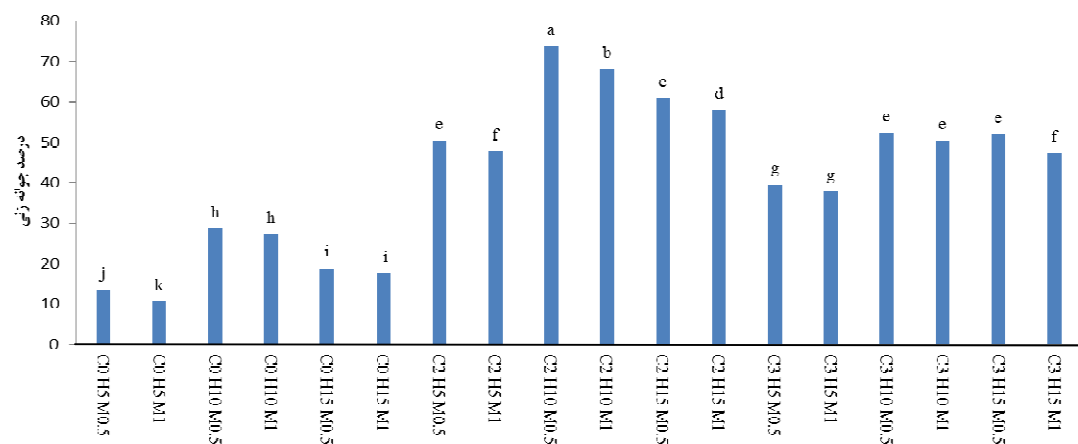
اثر متقابل فاکتورهای مؤثر بر جوانه‌زنی

نتایج بررسی اثر متقابل تیمارهای مؤثر بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه، نشان داد ترکیب فاکتورها بر جوانه‌زنی بذر تأثیرگذار است (جدول ۶). همان‌گونه که شکل ۱۰ نیز نشان می‌دهد، بهترین ترکیب تیماری که نتوانست میانگین جوانه‌زنی را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد (۷۳/۸۳ درصد)، ترکیب دو هفته سرما، ده میلی‌گرم در لیتر هورمون اسید جیبرلیک و شش ساعت آبشویی بود. افزایش سرمادهی و سایر تیمارها در دیگر ترکیب‌های تیماری، تأثیر چندانی بر افزایش درصد جوانه‌زنی نداشت. هم‌چنین نتایج نشان داد که ترکیب تیماری آبشویی و غلظت هورمون بدون سرمادهی، میزان جوانه‌زنی را به‌طور معنی‌داری تغییر نمی‌دهد. ترکیب فاکتوری دو هفته سرما، ده میلی‌گرم در لیتر هورمون و محیط کشت MS 1/2، نیز میانگین جوانه‌زنی را به میزان ۷۳/۷۷ درصد افزایش داد (شکل ۱۱). در



شکل ۱۰- مقایسه برهمکنش تیمار سرمادهی (هفته)، غلظت اسید جیبرلیک (میلی گرم در لیتر) و زمان آبیویی (ساعت) بر میانگین جوانه زنی بذر آنغوزه. (حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن است).

شکل ۱۰- مقایسه برهمکنش تیمار سرمادهی (هفته)، غلظت اسید جیبرلیک (میلی گرم در لیتر) و زمان آبیویی (ساعت) بر میانگین جوانه زنی بذر آنغوزه. (حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن است).



شکل ۱۱- مقایسه برهمکنش تیمار سرمادهی (هفته)، غلظت اسید جیبرلیک (میلی گرم در لیتر)، قدرت محیط کشت (M) آنغوزه. (حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن است).

شکل ۱۱- مقایسه برهمکنش تیمار سرمادهی (هفته)، غلظت اسید جیبرلیک (میلی گرم در لیتر)، قدرت محیط کشت (M) آنغوزه. (حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن است).

بحث

نشان می‌دهند. سرما می‌تواند تا حد زیادی در رفع این نوع خواب‌ها اثر کند. تیمار سرمادهی به منظور افزایش جوانه زنی اغلب گونه‌های دارای خواب به کار می‌رود (حسن و فتوح^۱، ۲۰۱۴). اسلیتر و بریانت^۲ (۱۹۸۲) نشان دادند که طی دوره سرمادهی در بذره‌های نیازمند به سرما، مقادیر زیادی RNA جمع می‌شود که برای

خواب و جوانه زنی بذر گیاهان به عوامل ژنتیکی و شرایط محیطی مؤثر بر رشد و نمو بذر بر روی بوته مادری و شرایط پس از برداشت بستگی دارد. به همین جهت در گونه‌ها، ژنوتیپ‌ها، اکوتیپ‌ها و همچنین شرایط محیطی مختلف، گزارش‌های متفاوتی درباره شرایط جوانه زنی و نحوه شکست خواب بذر وجود دارد. بذر گیاهان خانواده چتریان، اشکال مختلفی از خواب فیزیولوژیکی را از خود

¹ Hassan and Fetouh

² Slater and Bryant

جدول ۶- تجزیه واریانس اثرات متقابل سرما، در غلظت هورمون (GA3)، زمان آیشویی و قدرت محیط کشت بذرهای آنگوزه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمون F
سرما	۲	۴۵۹۰۷/۲۷۳	۵۳۴۲/۸۰**
غلظت اسید جیبرلیک	۲	۷۶۷۸/۷۴۰	۸۹۳/۶۷۱**
آیشویی	۲	۹۵۰/۹۲۱	۱۱۰/۶۷۱**
محیط کشت	۱	۶۲۲/۳۷۹	۷۲/۴۳۴**
اسید جیبرلیک × سرما	۴	۳۳۱/۰۷۸	۳۸/۵۳۲**
آیشویی × سرما	۴	۳/۰۲۹	۰/۳۵۳ ^{ns}
محیط کشت × سرما	۲	۲۳/۷۴۱	۲/۷۶۳ ^{ns}
آیشویی × اسید جیبرلیک	۲	۶۰/۵۱۲	۷/۰۴۳**
محیط کشت × اسید جیبرلیک	۲	۳/۳۷۲	۰/۳۹۲ ^{ns}
محیط کشت × آیشویی	۲	۱۰/۱۶۵	۱/۱۸۳ ^{ns}
اسید جیبرلیک × سرما	۸	۳۲/۵۶۹	۳/۷۹۰**
آیشویی × اسید جیبرلیک	۴	۲۷/۹۹۵	۳/۲۵۸**
محیط کشت × اسید جیبرلیک	۴	۲۲/۰۹۲	۲/۵۷۱**
آیشویی × اسید جیبرلیک	۴	۳۳/۲۵۸	۳/۸۷۱**
محیط کشت × اسید جیبرلیک	۸	۷/۰۵۹	۰/۸۲۲ ^{ns}
محیط کشت × آیشویی	۲۷۰	۸/۵۹۲	
خطای آزمایش			

ضریب تغییرات = ۶/۹۹٪

** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و عدم معنی‌داری

مثبتی بر شکست خواب بذر داشته که احتمالاً ناشی از تأثیر بر نفوذپذیری غشاهای سلولی و تغییر در جابه‌جایی یون‌ها به‌ویژه کلسیم برای تحریک و تولید بیشتر اسید جیبرلیک می‌باشد (توماس^۱، ۱۹۹۰ و بولی و بلاک^۲، ۱۹۹۴). هم‌چنین طبق نظریه‌ای که مورد قبول بسیاری از کارشناسان مسائل بذر است، سرما باعث کاهش اسید آبسزیک یا افزایش اسید جیبرلیک و یا هر دو تغییر به‌طور هم‌زمان شده و با ایجاد تعادلی در دو هورمون، خواب بذر پایان می‌یابد (تی‌پیرداماز و گومورژن^۳، ۲۰۰۰). زارع^۴ و همکاران (۲۰۱۱)، نیز در بررسی اثر تیمارهای مختلف سرمادهی بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه، نتیجه گرفتند که افزایش تعداد روزهای سرمادهی تا ۶۰ روز بیشترین تأثیر بر بهبود درصد جوانه‌زنی (۶۸ درصد) داشته که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. هم‌چنین در مطالعه رجیبیان و همکاران (۱۳۸۶) نشان داده شد که تیمار سرمادهی (۴ درجه سانتی‌گراد) سبب افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای آنگوزه می‌گردد.

عموآقایی (۱۳۸۵)، با بررسی تأثیر خیساندن بذرهای مدت زمان و دمای پیش‌سرمای مرطوب بر شکست خواب بذر کما، به این نتیجه رسید که پیش‌سرمای مرطوب در دمای ۳-۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ تا ۹ هفته بهترین تیمار برای شکست خواب بذر کما می‌باشد. در مطالعات حسنی^۵ و همکاران (۲۰۰۹)، به ۹ هفته سرمادهی مرطوب جهت جوانه‌زنی بذرهای آنگوزه اشاره شده است. خطیب‌زاده و همکاران (۱۳۹۲)، با مطالعه اثر سطوح متفاوت سرمادهی بر جوانه‌زنی بذرهای انجدان رومی، به این نتیجه رسیدند که کاربرد پیش‌سرمای مرطوب به مدت ۳ ماه بیشترین درصد جوانه‌زنی به میزان ۹۲ درصد را در پی داشته است. کشتکار و همکاران (۱۳۸۸)، با هدف بررسی تأثیر برخی تیمارها بر شکست خواب و جوانه‌زنی بذرهای آنگوزه و باریجه، بیان داشتند که شستشو تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذرهای این دو گیاه نداشته و تیمار شستشو و سرمادهی

شروع رشد و نمو بذر موردنیاز است. زنگویی و همکاران (۱۳۹۱)، در مطالعه تعیین درجه حرارت‌های کاردینال جوانه‌زنی بذر آنگوزه نشان دادند که بالاترین میانگین جوانه‌زنی در درجه حرارت‌های ۳ و ۶ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد و درصد بالای جوانه‌زنی بذر در ۳ درجه سانتی‌گراد (۷۰ درصد)، نشان‌دهنده توان بالای این گیاه در تحمل سرما و هم‌چنین نیاز سرمایی به‌منظور جوانه‌زنی است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در تیمار سرمایی اعمال‌شده بر بذر محلب توسط سخاوتی و همکاران (۱۳۹۰)، نیز بیان گردید که سرمادهی تأثیر

¹ Thomas

² Bewley and Black

³ Tipirdamaz and Gomurgen

⁴ Zare

⁵ Hassani

۱۲۵ و ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر، سبب افزایش معنی دار جوانه زنی بذر هر دو گونه شد و بیشترین جوانه زنی نیز در تیمار دو هفته سرمادهی مشاهده شد که مطابق نتایج این تحقیق است. اطرش و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی شکست خواب آنغوزه دریافتند که استفاده از ترکیب هورمون BAP با غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر به همراه اسید جیبرلیک ۵ میلی گرم در لیتر و سه هفته سرمادهی، بیشترین میزان جوانه زنی را نشان می دهد. پروین^۴ و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی شکست خواب و جوانه زنی گردو دریافتند که استفاده از جیبرلیک اسید با غلظت ۴۰۰ پی پی ام همراه با دو ماه سرمادهی می تواند جوانه زنی را به میزان ۶۹ درصد افزایش دهد که در رابطه با کاربرد ترکیب این دو تیمار، با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. قره ماتروسیان^۵ و همکاران (۲۰۱۴) نیز با استفاده از غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر جیبرلیک اسید و ده روز سرمادهی، جوانه زنی هندوانه ابوجهل^۶ را به میزان ۵۰ درصد افزایش دادند که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. رضایی چیانسه و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی روش های مؤثر در شکست خواب بذرالبنج مشبک، به افزایش چشمگیر درصد جوانه زنی بذر، تحت تیمار تلفیقی سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک تأکید داشتند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. مکی زاده تفتی و همکاران (۱۳۸۵) نیز بالاترین درصد جوانه زنی بذر اکیناسه^۷ را در تیمار تلفیقی سرما و اسید جیبرلیک گزارش کرده که مؤید نتایج این تحقیق است. در مطالعات ایمانی^۸ و همکاران (۲۰۱۱) در گونه های پرونوس^۹ و هم چنین الابیسی^{۱۰} و همکاران (۲۰۱۰) در بذره های چری^{۱۱} نیز از تیمار تلفیقی هورمون و سرما به منظور بهبود و افزایش جوانه زنی استفاده شده که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. روات^{۱۲} و همکاران (۲۰۱۰) نیز در مطالعه خود نشان دادند که تیمار

به مدت ۱۴ روز در دمای +۵ درجه سانتی گراد، بهترین روش برای شکست خواب بذر آنغوزه می باشد که مطابق با نتایج این تحقیق است. مکی زاده تفتی و همکاران (۱۳۹۰) بالاترین درصد جوانه زنی (۷۵ درصد) بذر گیاه کور^۱ را در تیمار آبشویی همراه با اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی پی ام به دست آوردند که تأییدی بر نتایج این تحقیق است. بر اساس گزارش انجمن بین المللی آزمون بذر خواب بذر در بیشتر گونه های چتریان، خواب اولیه درونی و فیزیولوژیک است (ایستا، ۱۹۹۶). هورمون ها در ایجاد و کنترل خواب فیزیولوژیک بذر، نقش کلیدی دارند و در این بین، اسید جیبرلیک نقش بسیار مهمی در شکستن خواب بذر، جایگزینی سرمادهی در بذره های دارای پوسته سخت و در نهایت جوانه زنی بذر دارد. با افزایش سطح این هورمون، تعادل بین مواد بازدارنده و تحریک کننده به سمت افزایش مواد تحریک کننده، پیش می رود و به این ترتیب قوه نامیه و درصد جوانه زنی بذر افزایش می یابد (عموآقایی، ۱۳۸۶). بررسی ها نشان می دهد فرایند خواب در برخی بذرها، مرتبط با تجمع مواد فنلی در آن ها است. اسید آبسزیک فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیز و در نتیجه میزان مواد فنلی بذر را افزایش می دهد. در مقابل اسید جیبرلیک و بنزیل آدنین، فعالیت آنزیم کاتکول اکسیداز را افزایش داده که موجب کاهش میزان مواد فنلی دانه و در نتیجه تحریک جوانه زنی می شوند (چی ووچا^۲ و همکاران، ۲۰۰۵). در عین حال جیبرلین با تضعیف سلول های آندوسپرمی موجب شکافت پوسته بذر توسط جنین شده و منجر به افزایش طول ریشه چه و ساقه چه در بذره های جوانه زده می شود (بکریم^۳ و همکاران، ۲۰۰۷). سخاوتی و همکاران (۱۳۹۰) مشاهده کردند، بیشترین درصد جوانه زنی در گیاه محلب با تیمار اسید جیبرلیک ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر انجام شد و غلظت های پایین تر، جوانه زنی کمتری نشان داد که صحت نتایج این تحقیق را نیز تأیید می نماید. فاریابی (۱۳۹۰)، در بررسی تأثیر تیمارهای مختلف بر شکستن کمون بذره های بومادران و آویشن نشان داد که اسید جیبرلیک در هر دو غلظت

⁴ Parvin

⁵ Gharehmatrossian

⁶ *Citrullus colocynthis* (L.)

⁷ *Echinacea angustifolia* D. C.

⁸ Imani

⁹ Prunus

¹⁰ Al- Absi

¹¹ Cherry

¹² Rawat

¹ *Capparis spinosa* L.

² Chiwocha

³ Bakrim

نیترات پتاسیم بوده که صحت این یافته‌ها را تأیید می‌نماید. افزایش میانگین جوانه‌زنی بذرهای مربوط به سال ۱۳۹۱ در مقایسه با ۱۳۹۲ در تحقیق حاضر حاکی از اثر سال و نیاز به گذشت زمان برای توسعه‌یافتگی رویان بذر می‌باشد. در بررسی تأثیر ارتفاع و تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه تلخ توسط پیرمادی و همکاران (۱۳۹۱) نیز در بذرهای تازه برداشت‌شده نسبت به بذرهای یک‌ساله با اعمال تیمارهای موردنظر، جوانه‌زنی ملاحظه نگردید که دلیلی بر وجود رویان توسعه‌نیافته در آنگوزه می‌باشد که با نتایج این تحقیق سازگاری دارد. نتایج تأثیر زمان برداشت بر روی گیاه تاج‌خروس ریشه قرمز^۸ نیز در آزمایش بلاغی و همکاران همکاران (۱۳۹۲) انجام شد و نشان داد که بذرهای جمع‌آوری‌شده در مردادماه، به نسبت بذرهای جمع‌آوری‌شده در شهریور و مهر، قدرت جوانه‌زنی بیشتری دارند که می‌تواند به علت خواب فیزیولوژیک بذر یا تغییرات فصلی سطوح خواب باشد که برای بسیاری از گونه‌ها، گزارش شده است (باسکین و باسکین^۹، ۱۹۹۸). تأثیر سال جمع‌آوری بذر بر جوانه‌زنی جوانه‌زنی گیاه کرفس کوهی، توسط ظفریان و همکاران (۱۳۹۲) و هم‌چنین بررسی خواب بذر چندگونه از خانواده چتریان توسط شریفی و همکاران (۱۳۹۴) نیز نشان داد که شرایط آب و هوایی، زیستگاه و زمان پر شدن بذر، گرما و یا عدم رطوبت کافی خاک، می‌تواند باعث پوک شدن برخی از بذرها و در نتیجه عدم جوانه‌زنی آن‌ها شود. دهکردی (۱۳۹۲)، نیز گزارش کرد که بذر یک‌ساله کاهو برخلاف بذر تازه آن، قوه نامیه بیشتری دارد؛ زیرا طی این مدت مبادله گازکربنیک و اکسیژن برای سبز شدن بذر به علت تغییرات بافت پوسته بذر امکان‌پذیر می‌گردد که نتایج تحقیق حاضر را تأیید می‌نماید. ظفریان و همکاران (۱۳۹۰)، با بررسی اثر تیمارهای درجه حرارت و عمر بذر در شکست خواب و ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر کرفس معطر بختیاری^{۱۰}، نتیجه گرفتند که میزان جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر دما و سال و اثر متقابل این دو عامل قرار

هم‌زمان سرما و اسید جیبرلیک باعث رشد ریشه و هم‌چنین افزایش وزن تر ریشه‌ها در انار^۱ می‌شود. کوچکی و عزیزی (۱۳۸۴) در گیاه کلیپوره^۲، نشان دادند افزایش مدت زمان آبشویی، باعث افزایش جوانه‌زنی شده و خیساندن بذرها در آب، ضمن شکستن خواب بذر، جوانه‌زنی را ۳۲ درصد افزایش داد که با نتایج این تحقیق نیز مطابقت دارد. هم‌چنین نجفی^۳ و همکاران (۲۰۰۶)، نیز نتایج یکسانی را در باریجه گزارش نمودند. در مطالعه عمواقایی (۱۳۸۴)، مشخص شد خیساندن اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذر کما ندارد که با نتایج این تحقیق همخوانی ندارد. در بررسی غلظت نمک‌های معدنی محیط کشت، برخی از محققان، محیط MS را مؤثرتر از سایر محیط‌های پایه برای خانواده چتریان دانسته‌اند (ماکونگا^۴ و همکاران، ۲۰۰۵)؛ اما مطالعات مارتین^۵ و همکاران (۲۰۰۶)، بر روی تکثیر هیبریدهای ارکید نشان داد، محیط MS 1/2 در مقایسه با محیط MS کامل، برای رشد ریزنمونه‌ها مؤثرتر بوده که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. قاسمیان و همکاران (۱۳۹۰)، به‌منظور بهینه نمودن شرایط کشت جنین گیاه وشا در محیط MS از غلظت‌های مختلف نمک‌های معدنی (MS، 1/2 MS، 1/4 MS، 1/8 MS)، استفاده نمودند که بهترین محیط برای جوانه‌زنی و تولید گیاهچه‌های کامل، MS 1/4 بود که با افزایش غلظت نمک‌ها، میزان جوانه‌زنی نیز کاهش یافت که نتایج این تحقیق را تأیید می‌نماید. رئیسی^۶ و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه جوانه‌زنی آنگوزه نشان دادند که غلظت ۰/۲ درصد نیترات پتاسیم در مقایسه با غلظت ۰/۴ درصد آن می‌تواند ۷۶ درصد جوانه‌زنی را افزایش دهد که با نتایج این تحقیق در خصوص استفاده از محیط MS 1/2 همخوانی دارد. در آزمایش طویلی و همکاران (۱۳۸۸) نیز مشخص شد نیترات پتاسیم تأثیر مثبتی بر بهبود جوانه‌زنی گیاه علف شور^۷ دارد. در تحقیق حاضر نیز محیط کشت MS بکار رفته، دارای بیشترین مقدار

¹ *Punica granatum*

² *Teucrium polium*

³ Nadjafi

⁴ Makunga

⁵ Martin

⁶ Raisi

⁷ *Salsola rigida*

⁸ *Amaranthus retroflexus*

⁹ Baskin and Baskin

¹⁰ *Kelussia odoratissima* Mozaff.

استفاده از سرمادهی مرطوب به مدت ۲ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید جیبرلیک منجر به افزایش جوانه‌زنی به میزان ۷۳/۸۳ درصد گردید. هم‌چنین اثرات سه‌گانه (آبشویی، سرما و محیط کشت MS ۱/۲) نیز به میزان ۷۳/۷۷ درصد جوانه‌زنی را افزایش داده است، لذا می‌توان نتیجه گرفت که اثرات متقابل عوامل مورد بررسی در این تحقیق، باعث افزایش معنی‌دار شکست خواب و جوانه‌زنی بذر گیاه آنغوزه می‌گردد.

داشته و بالاترین میزان جوانه‌زنی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، بوده و در ۲۲ درجه، جوانه‌زنی مشاهده نشد. هم‌چنین از لحاظ تأثیر سال، جوانه‌زنی در بذره‌های مربوط به سال ۱۳۸۸ رخ داد در حالی که در بذره‌های سال ۱۳۹۰ جوانه‌زنی مشاهده نشد که مؤید نتایج این تحقیق می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به معنی‌دار شدن اثرات متقابل سه‌گانه در مقابل اثرات چهارگانه، آبشویی بذر به مدت ۶ ساعت با

منابع

- امیدبیگی، ر.، پیرمادی، م.ر. و کریم‌زاده، ج. ۱۳۸۴. بررسی اثر روش‌های مختلف تیغ‌زنی بر میزان بازدهی و بقای گیاه آنغوزه. (*Ferula assa-foetida* L.). منابع طبیعی ایران، ۵۷(۴): ۷۹۸-۷۹۱.
- بلاغی، س.، راستگو، م.، رحیمیان مشهدی، ح.، قنبری، ع.، قربانی، ر. و اویسی، م. ۱۳۹۲. تأثیر زمان‌های برداشت بذر از گیاه مادری بر جوانه‌زنی تاج‌خروس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus*). پنجمین همایش علوم علف‌های هرز ایران. پردیس کشاورزی، دانشگاه تهران. ۴۸۴-۴۸۲.
- پیرمادی، م.ر.، امیدبیگی، ر.، نقوی، م.ر.، باقی‌زاده، ا. و یداللهی، ع. ۱۳۹۱. تأثیر ارتفاع و تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی بذر آنغوزه تلخ (*Ferula assa foetida* L.). علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۳(۴): ۴۷۱-۴۶۳.
- خطیب‌زاده، ر. عزیز، م. آرویی، ح. و فارسی، م. ۱۳۹۲. اثر تیمارهای ضد عفونی سطحی و چینه‌سرمایی بر جوانه‌زنی بذر انجدان رومی (*Levisticum officinale* Koch.) در شرایط درون شیشه‌ای. علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۷(۲): ۱۳۸-۱۳۰.
- دهکردی، ر.ک.، ۱۳۹۲. تأثیر آب‌سزیک اسید، اتفن، ۱- متیل سیکلوپروپان، تیوسولفات نقره و پرمنگنات پتاسیم بر رشد رویشی و زایشی کاهو (*Lactuca sativa*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۴۶-۴۰.
- رجبیان، ط.، صبورا، ع.، حسنی، ب. و فلاح حسینی، ح. ۱۳۸۶. اثر اسید جیبرلیک و سرمادهی بر جوانه‌زنی بذر آنغوزه. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۳(۳): ۴۰۴-۳۹۱.
- رضایی چپانه، ا.، تاج‌بخش، م.، ولیزادگان، ا.، بنایی‌اصل، ف. و مهدوی‌کیا، ح. ۱۳۹۳. بررسی روش‌های مؤثر در شکستن خواب بذرالبنج مشبک (*Hyoscyamus reticulatus* L.). پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۲(۲): ۲۵۳-۲۴۶.
- زرگری، ع. ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۶۰۲-۵۹۲.
- زنگویی، م. پارسا، س.، محمودی، س. و جامی‌الاحمدی، م. ۱۳۹۱. تعیین درجه حرارت‌های کاردینال جوانه‌زنی بذر آنغوزه (*Ferula assa foetida*). پژوهش‌های تولید گیاهی، ۱۹(۳): ۲۰۲-۱۹۳.
- سخاوتی، ن. حسینی، س.م.، اکبری‌نیا، م. و رضایی، ا. ۱۳۹۰. اثر اسید جیبرلیک همراه با سرمادهی جهت رفع خواب و افزایش جوانه‌زنی بذر بدون پوسته و با پوسته محلب (*Cerasus mahaleb* L. Mill.). تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۹(۱): ۲۰۴-۱۹۲.

- شریفی، ح.، خواجه حسینی، م. و راشد محصل، م. ح. ۱۳۹۴. بررسی خواب بذر در هفت گونه گیاه دارویی از تیره چتریان (Apiaceae). پژوهش‌های بذر ایران، ۲(۱): ۳۶-۲۵.
- طولی، ع. صفری ب و صابری، م. ۱۳۸۸. مقایسه تأثیر کاربرد اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم بر بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی *Salsola rigida*. مرتع، ۳(۲): ۲۸۰-۲۷۲.
- ظفریان، س. و هوشمند، س. ۱۳۹۲. بررسی اثر زمان، میزان و نحوه اعمال تنظیم‌کننده‌های رشد بنزیل آمینو پورین و اسید جیبرلیک بر شکستن خواب بذر گیاه کرفس کوهی. تولید و فراوری محصولات زراعی و باغی، ۳(۸): ۱۷۵-۱۶۵.
- ظفریان، س. هوشمند، س. و روحی، و. ۱۳۹۰. اثر تیمارهای درجه حرارت و عمر بذر در شکستن خواب و ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر کرفس معطر بختیاری (*Kelussia odoratissima Mozaff.*). داروهای گیاهی، ۲(۴): ۲۵۹-۲۵۵.
- عموآقایی، ر. ۱۳۸۴. تأثیر خیساندن بذر، مدت زمان و دمای پیش‌سرما‌ی مرطوب بر شکست خواب بذر کما (*Ferula ovina Boiss.*). زیست‌شناسی ایران، ۱۸(۴): ۳۵۹-۳۵۰.
- عموآقایی، ر. ۱۳۸۵. تأثیر جیبرلین و سرما‌ی مرطوب بر شکست خواب بذر کما (*Ferula ovina Boiss.*). مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۱: ۴۸۱-۴۷۱.
- عموآقایی، ر. ۱۳۸۶. تأثیر برخی تنظیم‌کنندگان رشد در تحریک جوانه‌زنی بذر کما (*Ferula ovina Boiss.*) مجله پژوهشی علوم پایه دانشگاه اصفهان، ۲۴(۲): ۵۰-۳۹.
- غلامی، ب. و عسگرزاده، م. ۱۳۸۷. بررسی تاریخ‌های مختلف کشت به‌منظور اهلی کردن آنغوزه شیرین. سومین همایش گیاهان دارویی، تهران، دانشگاه شاهد.
- فاریابی، ا. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر تیمارهای مختلف بر شکست کمون بذرهای دو گیاه دارویی بومادران و آویشن. اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه.
- قاسمیان، خ. ناظری، س. و میرزایی اصل، ا. ۱۳۹۰. کشت جنین گیاه وشا (*Dorema ammoniacum*) و تأثیر محیط کشت و هورمون بر روی رشد آن. اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه.
- کشتکار، ح. ر. آذرنبوند، ح. و شهریاری، ا. ۱۳۸۸. بررسی تأثیر برخی تیمارها بر شکست خواب و جوانه‌زنی بذرهای *Ferula gummosa* و *assa foetida*. مرتع، ۳(۲): ۲۹۰-۲۸۱.
- کوچکی، ع. و عزیزی، گ. ۱۳۸۴. اثر تیمارهای مختلف شکستن خواب بر جوانه‌زنی بذر کلپوره (*Teucrium polium*). مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۳(۱): ۸۸-۸۱.
- مکی‌زاده تفتی، م.، فرهودی، ر.، راستی‌فر، م. و اسیلان، ک. س. ۱۳۹۰. روش‌های شکست خواب بذر در گیاه کور (*Capparis spinosa L.*). تحقیقات مرتع و بیابان ایران، ۱۸(۴): ۵۷۷-۵۶۹.
- مکی‌زاده تفتی، م.، فرهودی، ر.، نقدی بادی، ح. و مهدی‌زاده، ع. ۱۳۸۵. تعیین بهترین تیمار افزایش جوانه‌زنی بذرهای گیاهان دارویی روناس، اکیناسه و مورد. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲(۲): ۱۱۶-۱۰۵.
- ملاشاهی، م. حسینی، س. م. بیات، د. رضایی، ا. و وطنی، ل. ۱۳۸۷. اثر زمان جمع‌آوری بر جوانه‌زنی و قوه نامیه بذر نمودار *Tilia Platyphylus* (Basswood). تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۱۶(۳): ۴۷۸-۴۸۵.
- Al-Absi, K.M. 2010. The effects of different pre-sowing seed treatments on breaking the dormancy of Mahaleb cherries, (*Prunus mahaleb L.*) seeds. Seed Science and Technology, 38(2): 332-340.

- Bakrim, A., Lamhamdi, M., Sayah, F., and Chibi, F. 2007. Effects of plant hormones and 20 hydroxyecdysone on tomato (*Lycopersicon esculentum*) seed germination and seedlings growth. African Journal of Biotechnology, 6(24): 2792-2802.
- Baskin, J.M., and Baskin, C.C. 1998. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Elsevier. 162-177.
- Bewley, J.D., and Black, M., 1994. Seeds: Physiology of development and germination. Second Edition, Plenum, Press., New York. 199-271.
- Chiwocha, S.D., Cutler, A.J., Abrams, S.R., Ambrose, S.J., Yang, J., Ross, A.R., and Kermodé, A.R. 2005. The *etr1-2* mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist-chilling and germination. The Plant Journal, 42(1): 35-48.
- Gharematrossian, S., Popov, Y., and Ghorbanli, M. 2014. Seed germination, dormancy breaking techniques of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrab plant. Iranian Journal of Plant Physiology, 4(4): 1167-1171.
- Golmohammadi, F. 2013. Medical plant of *Ferula assa-foetida* and its cultivating, main characteristics and economical importance in South khorasan province - east of Iran. Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, 3(18): 2334-2346.
- Hassan, F.A., and Fetouh, M.I. 2014. Seed germination criteria and seedling characteristics of *Magnolia grandiflora* L. trees after cold stratification treatments. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(3): 235-241.
- Hassani, B., Saboora, A., Radjabian, T., and Fallah Hussein, H. 2009. Effects of temperature, GA3 and Cytokinins on breaking seed dormancy of *Ferula assa-foetida* L. Iranian Journal of Science and Technology (Sciences), 33(1): 75-85.
- Imani, A., Rasouli, M., Tavakoli, R., Zarifi, E., Fatahi, R., Barba-Espin, G., and Martinez-Gomez P. 2011. Optimization of seed germination in *Prunus* species combining hydrogen peroxide or gibberellic acid pre-treatments with stratification. Seed Science and Technology, 39(1): 204-207.
- International Seed Testing Association (ISTA), 1999. International rules for seed testing. Seed Science and Technology, (Supplement). 27: 333.
- International Seed Testing Association (ISTA). 1996. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. 21, (Supplement Rules).
- Makunga, N.P., Jager, A.K., and Van Staden, J., 2005. An improved system for the in vitro regeneration of *Thapsia garganica* via direct organogenesis—influence of auxins and Cytokinins. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 82(3): 271-280.
- Martin, K. P., and Madassery, J. 2006. Rapid in vitro propagation of *Dendrobium hybrids* through direct shoot formation from foliar explants, and protocorm-like bodies. Scientia Horticulturae, 108(1): 95-99.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. Arevised media for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15(3): 473-497.
- Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L., and Rastgoo, M. 2006. Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. Journal of Arid Environment, 64(3): 542-547.
- Otroshy, M., Zamani, A., Khodambashi, M., Ebrahimi, M., and Struik, P.C. 2009. Effect of exogenous hormones and chilling on dormancy breaking of seeds of *Asafoetida* (*Ferula assa-foetida* L.). Reseach Journal of Seed Science, 2(1): 9-15.

- Parvin, P., Khezri, M., Tavasolian, I., and Hosseini, H. 2015. The effect of gibberellic acid and chilling stratification on seed germination of eastern black walnut (*Juglans nigra* L.). *Journal of Nuts*, 6(1): 67-76.
- Raisi, A. Nabavi Kalat, S.M., and Sohani Darban, A.R. 2013. The study effects of stratification, temperature and potassium nitrate on seed dormancy breaking *Ferula assa foetida*. *World Applied Sciences Journal*, 21(3): 379-383.
- Rawat, J.M.S., Tomar, Y.K., and Rawat, V. 2010. Effect of stratification on seed germination and seedling performance of wild pomegranate. *Journal of American Science*, 6(5): 97-99.
- Slater, R.J., and Bryant, J.A. 1982. RNA metabolism during breakage of seed dormancy by low temperature treatment of fruitlets of *Acer platanoides*. *Annals of Botany*, 50(2): 141-149.
- Thomas, T.H., 1990. Hormonal involvement in photo regulation of celery seed dormancy. *Monograph British Society for Plant Growth Regulation*, 20: 51-59.
- Tipirdamaz, R., and Gomurgen, N. 2000. The effects of temperature and gibberellic acid on germination of *Eranthis hyemalis* (L.) salisb seeds. *Turkish Journal of Botany*, 24(2): 143-145.
- Zare, A.R., Solouki, M., Omidi, M., Iravani, N., Oladzad Abasabadi, A., and Mahdi Nezaad, N. 2011. Effect of various treatments on seed germination and dormancy breaking in *Ferula assa foetida* L. (*Asafetida*), a threatened medicinal herb. *Trakia Journal of Sciences*, 9(2): 57- 61.

Effect of Breaking Dormancy Treatments on Germination of *Ferula assa-foetida* L. Seed

Ahmad Nowruzian¹, Majid Masoumian^{2,*}, Mohammad Ali Ebrahimi³, Gholam Reza Bakhshi khaniki⁴

¹ Researcher, Department of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran

^{3,4} Associate Professor and Professor, Biotechnology Department of Payame Noor University of Tehran, Tehran, Iran

*Corresponding author, E-mail address: masoumian@irost.ir

(Received: 03.04.2016 ; Accepted: 27.07.2016)

Abstract

Asafetida (*Ferula assa-foetida* L.) is an important medicinal plant belonging to Apiaceae family, and has long dormancy. In this research, vernalization, washing time, GA3, medium strength, harvesting time and interaction of these treatments were studied to optimize condition of germination. The results showed that vernalization at 4-5°C for two weeks increased germination by 50%, as compared with the control. Maximum and minimum germinations were obtained for 6 and 2 hours' washing, which were 42% and 20.47%, respectively. Germination of *Ferula* was increased (41.5%) by using 10 mg/l of GA3, as compared with the control. In addition, using half strength MS media led to a 25% increase in germination. Moreover, germination mean increased by applying these treatments to one-year-old seeds, in comparison with fresh ones (61% and 36%, respectively). By running factorial experiments in the CRD, the best combination of treatments which could significantly increase germination was combination of vernalization (4-5°C for two weeks), half strength MS media, GA3 (10 mg/l) and washing time (6h). Given the results of the study, for the purpose of breaking the dormancy of Asafetida, it is suggested that use be made of one-year-old seeds, and half strength MS media, along with right combinations of vernalization, washing time and GA3.

Keywords: Washing time, *Ferula assa-foetida* L., GA3, Germination, Harvesting time, Vernalization, Seed dormancy breaking